

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-023883

(43)Date of publication of application : 28.01.1997

(51)Int.Cl.

G12N 15/09
A61K 38/22
A61K 38/22
G07H 21/04
G12P 21/02
// G12N 1/21
(G12P 21/02
G12R 1:19)
(G12N 1/21
G12R 1:19)

(21)Application number : 08-147369

(71)Applicant : BOEHRINGER MANNHEIM GMBH

(22)Date of filing : 10.06.1996

(72)Inventor : LANG KURT DR
BARTKE ILSE DR
NAUJOKS KURT DR
RUDOLPH RAINER
STERN ANNE DR

(30)Priority

Priority number : 91 4139000 Priority date : 27.11.1991 Priority country : DE.

(54) PRODUCTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE BETA-NGF BY GENETIC ENGINEERING OPERATION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for producing a biologically active β -NGF (nerve growth factor), effective on cost and capable of simply producing the biologically active human β -NGF in a procaryote, especially E. coli.

SOLUTION: (a) A DNA sequence containing a DNA is expressed in a procaryote host organism. The DNA codes for the sequence of 118 amino acids of mature β -NGF or an amino acid sequence obtained by cleaving off the amino acids ranging from the N-terminal amino acid to the ninth amino acid from the sequence of 118 amino acids of the mature NGF. (b) The insoluble aggregates of the inactive β -NGF obtained after the expression are converted into a soluble active form by a solubilization treatment and a pulse regeneration treatment using a redox system selected from cystamine/cysteamine and cystine/ cysteine. Therein, the pulse regeneration treatment is carried out at a temperature of 2-10° C and at a pH of 8-10 in the presence of arginine. The biologically active β -NGF is obtained by the expression of the DNA sequence in the procaryote host cell by the method comprising the above-described processes.

D2

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-23883

(43) 公開日 平成9年(1997)1月28日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	片内整理番号	FI	技術表示箇所
C12N 15/09		9162-4B	C12N 15/00	A
A61K 38/22	AAB		C07H 21/04	B
	AAM		C12P 21/02	ZNAH
C07H 21/04		7804-4B	C12N 1/21	
C12P 21/02	ZNA		A61K 37/24	AAB

審査請求 有 請求項の数10 OL (全16頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-147369
(62) 分割の表示 特願平4-318680の分割
(22) 出願日 平成4年(1992)11月27日
(31) 優先権主張番号 P4139000:8
(32) 優先日 1991年11月27日
(33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(71) 出願人 591215177
バーリンガー・マンハイム・ゲーエムベー
ハー
ドイツ連邦共和国 68298 マンハイム、
サントホファーシュトラッセ 116
(72) 発明者 クルト ランク
ドイツ連邦共和国 8122 ベンツバーク
ランゴナー シュトラッセ 10
(72) 発明者 イルセ バルトケ
ドイツ連邦共和国 8132 ツーツィンク
フォン・ヒレーン・ウェック 2
(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 遺伝子操作による生物活性β-NGFの生産方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 原核生物、特にE. coli中の活性ヒトβ-NGFのコスト上有効な簡単な生産を可能にする方法の提供。

【解決手段】 (a) 成熟β-NGFの118個のアミノ酸配列または成熟β-NGFの118個のアミノ酸配列のN-末端側から9個までのアミノ酸がプロテアーゼを使用して開裂されるアミノ酸配列をコードするDNAを含有するDNA配列を原核宿主生物中で発現させ、

(b) 発現後に得られた不活性β-NGFの不溶性凝集物をシスタミン/システアミン及びシスチン/システインから選ばれる酸化還元系の助けによる可溶化およびパルス再生により可溶性の活性形態に変換し、この際パルス再生は、アルギニンの存在下2℃から10℃の間の温度および8-10のpHで実施される、工程からなる原核宿主細胞中での該DNA配列の発現による生物活性β-NGF (神経成長因子) の製造方法。